

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 20520070153619

UDC _____

厦门大学

博士学位论文

基于纳米氧化钛光催化活性的多肽、氮化物和四环素类抗生素的分析研究

Analysis of peptides, NO_x and tetracyclines based on the photocatalytical redox perperties of nano TiO₂

王丽娟

指导教师姓名: 王秋泉 教授

专业名称: 分析化学

论文提交日期: 2011 年 9 月

论文答辩日期: 2011 年 9 月

学位授予日期: 2011 年 9 月

答辩委员会主席: _____

评阅人: _____

2011 年 9 月



Analysis of peptides, NO_x and tetracyclines based on the photocatalytical redox properties of nano TiO₂

A Dissertation Submitted to the Graduate School in Partial Fulfillment of
the Requirements for the Degree of Doctor Philosophy

By

Li-Juan Wang

Supervised by

Prof. Qiu-Quan Wang

Department of Chemistry

Xiamen University

September, 2011

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘 要	I
Abstract	III
第一章 前言	1
1.1 纳米半导体材料的概述	1
1.1.1 纳米材料概念和特性	1
1.1.2 纳米半导体的特殊性质	2
1.2 二氧化钛 (TiO ₂) 纳米半导体材料的简介	4
1.2.1 纳米 TiO ₂ 的晶型、结构和性质	6
1.2.2 纳米 TiO ₂ 光催化的机理	6
1.2.3 影响纳米 TiO ₂ 光催化的因素及其增强方法	8
1.2.4 纳米 TiO ₂ 的制备及负载方法	12
1.3 纳米 TiO ₂ 在分析化学中的应用	13
1.3.1 纳米 TiO ₂ 颗粒富集效果	13
1.3.2 纳米 TiO ₂ 在高效液相、电泳等分离技术中的应用	14
1.3.3 纳米 TiO ₂ 作为气敏元件	15
1.3.4 纳米 TiO ₂ 光催化活性的应用	16
1.4 本论文选题依据和研究内容	18
参 考 文 献	20
第二章 纳米氧化钛光致活性与光谱法联用检测平台的建立	32
2.1 前言	32
2.2 检测平台的构建	33
2.3 氧化钛光反应器	33
2.3.1 石英管光检测器	33
2.3.2 PDMS 芯片光反应器	34
2.4 实验用化学发光检测器和紫外可见检测器	35
2.4.1 化学发光检测器基本结构	35

2.4.2 UV-Vis 检测器	46
参考文献	48
第三章 Ag 沉积纳米 TiO₂ 光致活性与紫外可见吸收光谱法联用检测含有二硫键的多肽	50
3.1 前言	50
3.1.1 生物巯基	50
3.1.2 生物二硫键	57
3.1.3 三角褐指藻简介	62
3.1.4 课题提出依据及研究设想	63
3.2 实验部分	64
3.2.1 试剂及溶液的配制	64
3.2.2 实验仪器	64
3.2.3 实验操作过程	65
3.3 结果与讨论	69
3.3.1 纳米 TiO ₂ 薄膜的表征	69
3.3.2 纳米 TiO ₂ 、Ag/TiO ₂ 对氧化型谷胱甘肽的吸附	70
3.3.3 可能的机理	71
3.3.4 光催化还原多肽二硫键条件的优化	74
3.3.5 UV-Ag/TiO ₂ -HCOOH 离线还原多肽二硫键	76
3.3.6 在线光催化还原多肽二硫键条件的优化	78
3.3.7 在线光催化还原氧化型谷胱甘肽、加压素和胰岛素	79
3.3.8 在线同时检测含有巯基和二硫键的多肽	81
3.3.9 实际样品检测	82
3.4 结论	84
参 考 文 献	86
第四章 纳米 TiO₂ 光致活性与化学发光光谱法联用检测硝酸盐和亚硝酸盐	99
4.1 前言	99
4.1.1 硝酸盐和亚硝酸盐的危害	99

4.1.2 硝酸盐和亚硝酸盐的检测方法.....	99
4.1.3 硝酸盐和/或亚硝酸盐的还原方法.....	105
4.1.4 研究课题的提出及意义.....	105
4.2 实验部分	106
4.2.1 试剂及溶液的配制.....	106
4.2.2 实验仪器.....	106
4.2.3 实验操作过程.....	108
4.3 结果和讨论	111
4.3.1 固定 TiO_2 方法的优化	111
4.3.2 可能的机理.....	113
4.3.3 光催化还原条件的优化.....	115
4.3.4 空穴捕获剂的考察.....	118
4.3.5 方法的建立.....	122
4.3.6 Griess 和电导法分别对亚硝酸盐和硝酸盐的检测	122
4.3.7 HPLC-nano TiO_2 -CL 应用于实际水样的检测	123
4.4 结论	125
参 考 文 献	126
第五章 纳米 TiO_2 光致活性与化学发光光谱法联用检测四环素类抗生素	133
5.1 前言	133
5.1.1 四环素类抗生素的性质.....	133
5.1.2 四环素类抗生素残留与影响.....	134
5.1.3 四环素类抗生素的检测方法.....	134
5.1.4 化学发光原理.....	139
5.1.5 研究课题提出及意义.....	142
5.2 实验部分	142
5.2.1 试剂及溶液的配制.....	142
5.2.2 实验仪器.....	143
5.2.3 实验操作.....	144

5.3 结果和讨论	145
5.3.1 优化光催化反应条件.....	145
5.3.2 色谱条件的优化.....	150
5.3.3 方法评价.....	151
5.3.4 HPLC-nano TiO ₂ -CL 应用于实际样品的考察	152
5.3.5 可能的机理.....	153
5.4 结论.....	154
参 考 文 献	155
第六章 论文总结与展望	163
6.1 总结.....	163
6.2 展望.....	164
已发表和待发表的论文及专利.....	166
致 谢	167

Contents

Abstract (in Chinese)	I
Abstract (in English)	III
Chapter 1 Preface	1
1.1 Overview of nano-semiconductor materials	1
1.1.1 Concepts and characteristics of nano-materials	1
1.1.2 The unique properties of nano-semiconductor materials	2
1.2 The introduction of nano titanium dioxide	4
1.2.1 Crystal structure and properties of nano TiO ₂	6
1.2.2 Mechanism of nano TiO ₂ photocatalysis	6
1.2.3 Influencing factors and methods of improving the activity of TiO ₂	8
1.2.4 Preparation and load methods of nano TiO ₂	12
1.3 Application of nano TiO₂ in the analytical chemistry	13
1.3.1 Preconcentration by nano TiO ₂	13
1.3.2 Application of nano TiO ₂ for separation in the HPLC and HPCE	14
1.3.3 Nano TiO ₂ as the gas sensor	15
1.3.4 Application of photocatalytical activity of nano TiO ₂	16
1.4 Objective, significance and main contents of the dissertation	18
References	20
Chapter 2 The establishment of analytical platform of nano TiO₂ photo-induced activity combined with spectrometry	32
2.1 Introduction	32
2.2 The construction of analytical platform	33
2.3 TiO₂ photocatalytical reactor	33
2.3.1 Quartz tube of photocatalytical reactor	33
2.3.2 PDMS chip of photocatalytical reactor	34
2.4 Chemiluminescence detector and UV-Vis detector in the experiment	35
2.4.1 The basic structure of homemade chemiluminescence detector	35
2.4.2 UV-Vis detector	46
References	48
Chapter 3 Ag-loaded nano-TiO₂ photo-induced activity combined	

with UV-Vis absorption spectrometry for the determination of disulfide-containing peptides	50
3.1 Introduction	50
3.1.1 Biothiol	50
3.1.2 Biological disulfides	57
3.1.3 <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	62
3.1.4 Objective and significance of the dissertation	63
3.2 Experimental	64
3.2.1 Reagents and preparation of solutions	64
3.2.2 Instruments.....	64
3.2.3 Experimental operation.....	65
3.3 Results and discussion	69
3.3.1 Surface characterization of nano TiO ₂ thin film	69
3.3.2 The adsorption of TiO ₂ and Ag/TiO ₂ towards oxidized glutathione....	70
3.3.3 Possible reduction mechanism.....	71
3.3.4 Optimization of offline photocatalytic reduction conditions	74
3.3.5 Offline reduction of disulfide-containing peptides with UV-Ag/TiO ₂ -HCOOH.....	76
3.3.6 Optimization of online photocatalytic reduction conditions.....	78
3.3.7 Online photo-reduction of oxidized glutathione, vasopressin and insulin	79
3.3.8 Online simultaneous determination of sulfhydryl-containing peptides and disulfide-containing peptides	81
3.3.9 Reduction of PCs in <i>P. Tricornutum</i>	82
3.4 Conclusions	84
References	86
Chapter 4 Nano TiO₂ photo-induced activity combined with chemiluminescence spectrometry for the determination of nitrate and nitrite	99
4.1 Introduction	99
4.1.1 Harmfulness of nitrate and nitrite	99
4.1.2 Determination methods of nitrate and nitrite	99
4.1.3 Reduction methods of nitrate and/or nitrite	105

4.1.4 Objective and significance of the dissertation	105
4.2 Experimental	106
4.2.1 Reagents and preparation of solutions	106
4.2.2 Instruments.....	106
4.2.3 Experimental operation.....	108
4.3 Results and discussion	111
4.3.1 Optimization of TiO ₂ immobilization procedures.....	111
4.3.2 Possible mechanism	113
4.3.3 Optimization of photo-induced reduction conditions	115
4.3.4 Investigation of hole scavengers	118
4.3.5 Analytical performance	122
4.3.6 Griess and IC-conductivity methods for the determination of nitrite and nitrate, respectively	122
4.3.7 Analytical application of the HPLC-UV/nanoTiO ₂ -CL method	123
4.4 Conclusions	125
References	126
Chapter 5 Nano TiO₂ photo-induced activity combined with chemiluminescence spectrometry for the determination of tetracycline antibiotics	133
5.1 Introduction	133
5.1.1 The properties of tetracycline antibiotics.....	133
5.1.2 Influence and residues of tetracyclines	134
5.1.3 Determination methods of tetracycline antibiotics	134
5.1.4 Brief introduction of chemiluminescence	139
5.1.5 Objective and significance of the dissertation	142
5.2 Experimental	142
5.2.1 Reagents and preparation of solutions	142
5.2.2 Instruments.....	143
5.2.3 Experimental operation.....	144
5.3 Results and discussion	145
5.3.1 Optimization of photocatalytical conditions	145
5.3.2 Optimization of chromatography conditions	150
5.3.3 Analytical performance	151

5.3.4 Analytical application of the HPLC-nano TiO ₂ -CL method	152
5.3.5 Possible mechanism	153
5.4 Conclusions	154
References	155
Chapter 6 Summary and prospects	163
6.1 Summary	163
6.2 Prospects	164
Publications and patents	166
Acknowledgements	167

摘 要

纳米材料因具有与传统材料不同的物理和化学特性,极大地触发了人们的研究兴趣并逐步被应用于基础和应用基础研究领域。作为典型的纳米半导体材料,锐钛型的纳米氧化钛(TiO_2)的导带和价带间的能隙达 3.2 eV。在波长小于 387.5 nm 紫外光的照射下,伴随着电子(e^-)被激发到其导带上的同时其价带上产生空穴(h^+);以氧化剂或还原剂存在的情况下,其表现出强的氧化(h^+)或还原(e^-)特性;此外,纳米 TiO_2 自身良好的稳定性、易于制备等特点使其更便于应用。基于锐钛型纳米 TiO_2 的氧化还原特性,我们尝试在光照和 h^+ 或 e^- 捕获剂存在条件下,利用纳米 TiO_2 和贵金属(Ag)表面修饰的纳米 TiO_2 (Ag/TiO_2) 进行目标分析物的还原或氧化,便于与后续检测技术的链接,实现目标分析物的选择性高灵敏检测。

本论文主要包括以下几方面的内容:

1 综述了纳米 TiO_2 的一些特性及近些年纳米 TiO_2 在分析化学中的应用,并提出本论文的选题依据和研究目标。

2 建构了纳米 TiO_2 (Ag/TiO_2) 还原或氧化与光谱联用分析平台,主要包括 TiO_2 (Ag/TiO_2) 光催化反应器和自制化学发光检测器。

3 制备了 Ag/TiO_2 。当采用甲酸作为空穴捕获剂时,考察了其对氧化型谷胱甘肽、加压素和胰岛素等多肽中二硫键的光致还原效率,证实了因 Ag 在纳米 TiO_2 表面的存在降低了 h^+ 和 e^- 的复合几率,与单纯的纳米 TiO_2 相比还原速率提高了 6 倍。在采用传统的 5,5-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)衍生试剂对 Ag/TiO_2 在线还原的模型多肽进行衍生并利用可见吸收光谱($\lambda_{\text{max}} = 412 \text{ nm}$)定量检测时,氧化型谷胱甘肽、加压素和胰岛素的检测限分别达到 10.3、89.0 和 17.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 。在 RP-HPLC 分离的情况下,采用 Ag/TiO_2 在线光致还原 DTNB 衍生可以实现还原和氧化型谷胱甘肽的在线检测,其检测限分别为 5.1 和 17.2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 。应用于 Cd 诱导的三角褐指藻中植物螯合肽的检测,还原效果可与传统还原试剂三丁基膦相媲美。

4 依据硝酸根(NO_3^-)和亚硝酸根(NO_2^-)在紫外光照下能被还原为 NO,

NO 和溶液中的超氧自由基反应生成具有强氧化性的过氧亚硝酸盐 (ONOO⁻), 氧化鲁米诺产生化学发光信号。本章利用纳米 TiO₂ 之导带 e⁻ 提高对 NO₃⁻ 和 NO₂⁻ 的光还原效率。采用 EDTA 作为空穴捕获剂时, 实验结果表明对于 1×10⁻⁵ mol L⁻¹ NO₂⁻ 化学发光信号较单独紫外光照射时增强了 85 倍, 而对于 1×10⁻⁴ mol L⁻¹ NO₃⁻ 的化学发光信号增强了 3.4 倍, 进而增加其检测灵敏度, 对 NO₃⁻ 和 NO₂⁻ 的检测限分别达到 1.4×10⁻⁶ mol L⁻¹ 和 3.9×10⁻⁸ mol L⁻¹。所建立的 AIE-HPLC-(UV/TiO₂)-CL 成功地应用于实际环境水样中 NO₃⁻ 和 NO₂⁻ 的分析。

5 根据纳米 TiO₂ 在紫外光照下产生的 h⁺ 能与吸附于其表面的 OH⁻ 或 H₂O 发生反应产生多种活性氧, 从而代替传统化学发光氧化试剂 (如 H₂O₂, 铁氰化钾等) 氧化鲁米诺产生化学发光。金属离子 Fe³⁺、Fe²⁺、Co²⁺、Ni²⁺、Zn²⁺ 均对此反应具有催化增强作用, 而 Fe²⁺ 由于其强烈的增强作用和与四环素类抗生素的较好络合能力而被选择作为催化试剂。本章利用四环素类抗生素与 Fe²⁺ 的络合作用抑制化学发光信号, 从而对四环素类抗生素进行检测。本方法对四环素、金霉素和多西环素的检测限分别为 17.2、48.6 和 12.5 μg L⁻¹, 并可应用于猪肾脏中四环素类药品的检测。

6 总结了本论文的研究工作, 并对将来进一步的研究工作进行了展望。

关键词: 纳米氧化钛; 二硫键多肽; 亚硝酸盐; 硝酸盐; 四环素类抗生素

Abstract

As a typical nano semiconductor material, the bandgap energy of anatase titanium dioxide (TiO₂) is 3.2 eV. When TiO₂ nanoparticle is illuminated by a light of a wavelength shorter than 387.5 nm, an conduction band electron (e⁻) and a valence band positive hole (h⁺) are simultaneously generated which can be employed as a reductant or an oxidant when a h⁺ or e⁻ scavenger presented. In addition, nano TiO₂ is applied easily because of its own good stability and easy preparation. We attempted to reduce or oxidize the target analytes with nano TiO₂ or Ag nanoparticle loaded nano TiO₂ (Ag/TiO₂) in the presence of h⁺ or e⁻ scavenger in the light of the redox properties of anatase TiO₂, which facilitate the link of subsequent detection techniques realizing a high sensitive detection.

The content of this dissertation is as follows:

1 The characteristics of nano TiO₂ were summarized; and its recent applications of TiO₂ nanoparticles in analytical chemistry were reviewed. Subsequently, my research proposal was made.

2 The analytical platform, which includes a TiO₂ (Ag/TiO₂) photocatalytic reactor and a homemade chemiluminescence detector, was constructed..

3 A Ag-loaded nanoTiO₂ was prepared. Its photo-induced reduction efficiency towards disulfide-containing peptides including oxidized glutathione, vasopressin and insulin was investigated when formic acid was used as a hole scavenger. It was confirmed that Ag nanoparticles loaded on the surface of nano TiO₂ greatly reduced the recombination rate of e⁻-h⁺ pair, and the reduction rate increased by 6 times when compared with pure nano TiO₂. Quantification of oxidized glutathione, vasopressin and insulin using visible absorption spectrometry ($\lambda_{\max} = 412 \text{ nm}$) with UV-Ag/TiO₂ and 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) derivatization was achieved, and the detection limits (3 σ) of oxidized glutathione, vasopressin and insulin reached 10.3, 89.0 and 17.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. On-line determination of glutathione and oxidized glutathione was achieved using RP-HPLC, and the detection limits (3 σ) were 5.1 and 17.2 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The proposed method was applied for the reduction of the Cd-induced phytochelatins (PCs) in *Phaeodactylum tricornutum*. The practical reduction efficiency of UV-Ag/TiO₂ towards cysteine-enriched PCs is comparable to that of traditional reduction agent tri-nbutylphosphine.

4 Nitrate (NO_3^-) and nitrite (NO_2^-) in aqueous solution can be reduced to NO by UV irradiation, and the NO reacts with the superoxide radical generating peroxynitrite (ONOO^-). The ONOO^- then oxidized luminol emitting strong chemiluminescence (CL). UV- TiO_2 was used to improve the reduction efficiency of NO_3^- and NO_2^- by the e^- generated at conduction band. CL intensities of $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ nitrite and $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ nitrate were enhanced by 85 and 3.4 times using UV- TiO_2 with EDTA as a h^+ scavenger. The detection limits (3σ) of the NO_3^- and NO_2^- were down to $1.4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ and $3.9 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$. AIE-HPLC-(UV/ TiO_2)-CL was successfully applied to the determination of NO_3^- and NO_2^- in water samples.

5 Active oxygen species can be generated via the oxidation of H_2O or OH^- in solution by oxidative holes of UV- TiO_2 . Luminol CL can be generated by such generated active oxygen species instead of the traditional chemiluminescent oxidation reagents (such as H_2O_2 , potassium ferricyanide, etc). Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} and Zn^{2+} can catalyze this reaction. Based on the complexation between Fe^{2+} and tetracyclines (TCs) that remarkably decreases the Fe^{2+} -catalyzed luminol CL, the determination of TCs was proposed. The results obtained indicated that the detection limits (3σ) for tetracycline, chlorotetracycline and doxycycline were 17.2, 48.6 and $12.5 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The proposed method could be applied to the determination of the TCs in the pork kidney.

6 Finally, achievements of this dissertation were summarized and future works were prospected.

Keywords: nano titanium dioxide (TiO_2); disulfide-containing peptides; nitrite; nitrate; tetracyclines.

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库